Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage:.https://ijasr.um.ac.ir/

Research Paper
Vol. 14, No. 1, Spring 2022, p. 27-41

Evaluation of chemical composition, gas production and digestibility of *Lathyrus sativus* grain treated using different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments

Hossein Rastpoor[1], Alireza Vakili[2]*, Abbasali Naserian[3], Mohsen Danesh Mesgaran[3], Reza Valizade[3]

Received: 18-04-2020
Revised: 14-07-2021
Accepted: 19-07-2021
Available Online: 07-06-2022

How to cite this article:
Rastpoor, H., A. Vakili, A. Naserian, M. Danesh Mesgaran and R. Valizadeh. 2022. Evaluation of chemical composition, gas production and digestibility of *Lathyrus sativus* grain treated using different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):27-41.
DOI:10.22067/ijasr.2021.38285.0

Introduction Providing the energy and protein in the diet of livestock, due to the high cost of its sources makes the highest cost of feed. Therefore, new and cheap domestic resources should be used in order to reduce costs and independency. *Lathyrus sativus* as a source of protein has been used in ruminants' diet and because of similar amino acids profile to soybean meal can be used instead of soybean meal in ruminants' diet. The protein content of *Lathyrus sativus* is 25.6-35.9 % of its dray matter. It is also reported that heat-processed soybeans are used as an important source of protein and energy in ruminants because heating reduces the breakdown of protein in the rumen and the passage of essential amino acids into the intestine (5). On the other hand, the reduction of anti-nutrients due to heat treatment, especially extrusion in soybean, has been reported in several studies. There is limited information about the effect of heat-processing on the nutritional value of *Lathyrus sativus*. The purpose of this experiment was to investigate the chemical composition, anti-nutrients, extent and rate of gas production and protein digestibility of *Lathyrus sativus* treated with different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments.

Materials and methods The *Lathyrus sativus* seed were processed by 1) Autoclave at 120 ˚C, 2) Oven at 100 ˚C, 3) Extruding at 110 ˚C, 4) Roasting on direct heat, 5) Furnace at 120 ˚C and 6) Furnace at 200 ˚C. Chemical composition including dry matter, organic matter, crude protein, crude fat, calcium and phosphorus was performed using AOAC methods. Tannin and total phenolic compounds were meseared by Folin and Ciocalteu (12). Extent and rate of gas production were done based on Menk and Stingas. Mobile nylon bag technique was applied for determination of protein digestibility in the romen and intestine. Data were analyzed using GLM procedure of SAS using a completely randomized design with 5 replications.

Results and Discussion Dry matter, ash, crude protein, crude energy, crude fat, calcium and phosphorus were not affected by different processing methods (P <0.05). However the amount of acid detergent fiber (ADF) and natural detergent fiber (NDF) with heat processing methods was significantly lower than non-processing method (P <0.05). Autoclaving and extrusion of *Lathyrus sativus* reduced the amount of phenolic compounds compared to the control (P <0.05). In addition, the furnace at 120 ° C and roasting even more than autoclaving and extrusion reduced the total phenolic compounds. The amount of gas production during various hours and its rate were significantly affected by the different processing procedures (P<0.05). At the initial hours (2 and 8 h) of incubation, the amount of gas produced in *Lathyrus sativus* unprocessed and processed in oven 100 ˚C was higher than

1-PhD student in Animal Nutrition, International Campus, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2-Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author Email: savakili@um.ac.ir

autoclave 120 ˚C, furnace 120 ˚C, and roasted seeds. Extruded seeds were reduced gas production in initial hours than any other processed methods except those put in the furnace 200 ˚C. The *Lathyrus sativus* placed in 200 ˚C furnace severely diminished gas production of the incubation at primary hours. The extruded *Lathyrus sativus* showed higher gas at the 12^{th} and 24^{th} hours of incubation compared with primary hours. This trend continued up to the 96^{th} hour of incubation. The results of gas production had conformity with rumen and intestine digestibility. It seems that the steam pressure in extrude and autoclave process can influence *Lathyrus sativus* fermentation. This effect in extrude process was higher than autoclave. The rumen and intestine dry matter and protein digestibility in extruded process was higher than the others. *Lathyrus sativus* with no process, at oven 100 ˚C and furnace 200 ˚C were shown equal dry matter and protein digestibility. The findings of the present research revealed that extruding, autoclaving and roasting procedures lead to increase of dry matter through decreasing water content and that it had no significant effect on other chemical composition. Also, the findings showed that place of *Lathyrus sativus* in furnace 200 ˚C decreased ADF and NDF *Lathyrus sativus* which might be due to the removal of some of the shells in this processing. Consequently, the process of extruding, autoclaving and roasting reduced the rapid part degradation of dry matter and protein of *Lathyrus sativus* and caused the slow part of degradation to increase, which is in consistent to other researcher about increasing of intestine protein digestibility in extruded and roasted soybean seed.

Conclusion Extruded, autoclaved and roasted *Lathyrus sativus* with the reduction of the amount of ruminal disappearance and the increase of the post ruminal digestibility of dry matter and crude protein transferred the place of the digestion of protein from the rumen to the small intestines. In furnace 200 ˚C, due to the intense denaturation of the protein or the formation of a protein-carbohydrate complex, the digestibility of dry matter and crude protein of *Lathyrus sativus* in the rumen and intestine was reduced. In addition, the results of our studies in confirming the studies of others reduced the concentration of total tannin and total phenolic compounds in *Lathyrus sativus*.

Key words: Gas production, Heat processing, *Lathyrus sativus*, Rumen and intestine digestibility.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی در شرایط *in vitro* و *in situ*

حسین راست پور[۱]، علیرضا وکیلی[۲*]، عباسعلی ناصریان[۳]، محسن دانش مسگران[۳]، رضا ولی زاده[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۴/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸

راست پور، ح.، ع. وکیلی، ع. ناصریان، م. دانش مسگران، و ر. ولی زاده. ۱۴۰۱. بررسی ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی در شرایط *in vitro* و *in situ*. پژوهشهای علوم دامی ایران. ۱۴(۱): ۴۱-۲۷.

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثرات فرآوری دانه خلر با روش‌های مختلف حرارتی بر ترکیب شیمیایی، فرآسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) دانه خلر فرآوری نشده (شاهد)، ۲) اتوکلاو شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۳) تونل حرارتی گذاری شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۴) تونل حرارتی گذاری شده در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد ، ۵) آون گذاری در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۶) اکسترود شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و ۷) برشته شده در دمای ۱۸۰ درجه بودند. نتایج نشان داد که ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، انرژی خام، چربی خام، کلسیم و فسفر تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری قرار نگرفت (P<۰/۰۵). اما مقدار ADF و NDF با روش‌های فرآوری حرارتی به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود (P<۰/۰۵). اتوکلاو کردن، اکسترود کردن، برشته کردن و تونل حرارتی گذاری در هر دو دمای ۱۲۰ و ۲۰۰ درجه سانتیگراد سبب کاهش غلظت تانن و کل ترکیبات فنلی در دانه خلر گردید (P<۰/۰۵). فرآیندهای اکسترود کردن در ۱۱۰ درجه سانتیگراد، اتوکلاو کردن در ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن منجر به کاهش میزان تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون و کاهش هضم پروتئین دانه خلر در شکمبه شدند، اما افزایش نرخ و میزان تولید گاز در ساعات پایان انکوباسیون و افزایش قابلیت هضم روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای پروتئین خام اتفاق افتاد (P<۰/۰۵) که نشان دهنده تغییر مکان هضم پروتئین از شکمبه به سمت روده باریک بود. در عمل آوری درون تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به دلیل دناتوره شدن شدید پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین-کربوهیدرات، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دانه خلر در شکمبه و روده کاهش یافت.

واژه های کلیدی: تولید گاز، خلر، فرآوری حرارتی، قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای

مقدمه

در کشور ایران به دلیل افزایش نوسانات قیمت نهاده‌های دامی و بروز مشکلاتی چون خشکسالی‌های متناوب و تحریم‌ها، استفاده از روش‌های مناسب برای حفظ و یا بهبود تولیدات دامی ضروری می‌باشد. تأمین انرژی و پروتئین در جیره‌ی دام‌ها به دلیل گران بودن منابع تأمین کننده‌ی آن، بیشترین هزینه خوراک مصرفی را شامل می‌شود، بنابراین باید دنبال منابع جدید داخلی و ارزان‌قیمت در جهت کاهش هزینه‌ها و

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام پردیس بین الملل، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲- دانشیار تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳- استاد تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: savakili@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2021.38285.0

عدم وابستگی بود. دانه گیاه خلر (*lathyrus sativus*) یکی از بقولات دانه‌ای و منبع خوب پروتئین می‌باشد که می‌تواند جایگزین مناسب کنجاله سویا شود . این گیاه در شرایط آب و هوایی خشک و در خاکهای قلیایی به خوبی رشد می کند (Amirabadi *et al*,2010) و در مناطق غرب و شمال غرب ایران برای تولید دانه جهت مصارف انسانی و همچنین تهیه علوفه دام کشت می‌شود (Razm-Azar *et al*,2012). دانه خلر به عنوان منبع پروتئین در جیره نشخوارکنندگان در آزمایشات متعدد مورد بررسی قرار گرفته است (Amirabadi *et al*,2010; Razm-Azar *et al*,2012). میزان پروتئین آن ۲۵/۶ تا ۳۵/۹ درصد، خاکستر ۲/۸ تا ۳/۵ درصد، چربی ۰/۷ تا ۱/۷ درصد و میزان فیبر ۵/۳ تا ۵/۹ درصد گزارش شده است (Yan, Z. Y *et al*,2006). این دانه سرشار از اسید آمینه لیزین می‌باشد، اما مقدار اسیدهای آمینه گوگرددار (متیونین، سیستئین و تریپتوفان) آن محدودیت دارد (Gatel, 1994; Hanbury *et al*,2010). ترکیب مواد معدنی دانه خلر تا حدودی مشابه گندم و مقدار منیزیم و سلنیوم آن از گندم و کنجاله سویا کمتر است (Low *et al*,1990). بر اساس مطالعات، دانه خلر به عنوان یک منبع پروتئین قابل استفاده در جیره دام مطرح است و بدلیل شباهت پروفایل اسیدهای آمینه آن با کنجاله سویا می‌تواند جایگزین مناسبی برای سویا در جیره دام باشد (Ramachandran and Ray,2008).

نشان داده شده است که فرآوری حرارتی کنجاله سویا سبب افزایش میزان عبور اسیدهای آمینه ضروری به روده در گاوهای شیری می شود (Noeroozi Deyarjan *et al*,2017). چوینارد و همکاران (Chouinard *et al*,1997) نیز گزارش کردند که دانه سویا فرآوری شده با حرارت به عنوان یکی از منابع مهم حاوی پروتئین عبوری و انرژی در نشخوارکنندگان استفاده می‌شود، زیرا حرارت دادن سبب کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه و عبور اسیدهای آمینه ضروری به روده می‌شود. از بین روش‌های مختلف فرآوری حرارتی، اکسترود کردن به عنوان یکی از بهترین روش‌ها برای بهبود ارزش تغذیه‌ای سویا مطرح است (Chouinard *et al*,1997). نشان داده شده است که فرآیند اکسترود سبب تخریب گلبول‌های چربی درون دانه شده و لذا منجر به رهایی سریعتر روغن در محیط شکمبه می‌شود (Reddy *et al*,1993) و این امر به طور بالقوه تجزیه پروتئین در شکمبه را کاهش می‌دهد (گیالونگو و همکاران، ۲۰۱۵). طحان و همکاران (Tahan *et al*,2012) درآزمایش پرتوتابی کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر نشان دادند که پرتوتابی در مقادیر کمتر از ۱۵۰کیلوگری باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه در پروتئین خام کنجاله سویا شد. قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای و قابلیت هضم کل دستگاه گوارش پروتئین خام دانه خلر در هر سه مقدار پرتو تابی شده با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری نسبت به دانه خلر پرتو تابی نشده افزایش یافت و مناسبترین مقدار پرتوتابی برای بهبود کیفیت پروتئین ۱۰۰کیلوگری بود. به گفته این محققین پرتوتابی الکترونی بر هضم پذیری پروتئین در کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر اثرات متفاوتی داشت، ولی در مجموع به ویژه در مورد دانه خلر باعث بهبود کیفیت پروتئین شد. با این وجود، مطالعات در زمینه اثر فرآوری حرارتی بر میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای پروتئین در دانه خلر بسیار محدود می‌باشد. از طرف دیگر کاهش مواد ضدتغذیه‌ای در اثر فرآوری حرارتی به خصوص اکسترود کردن در سویا در مطالعات متعددی گزارش شده است (Hanbury *et al*,2010; Riasi *et al*,2014; Tadelle *et al*,2003). ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در خلر شامل یک آمینواسید غیر پروتئینی ایجادکننده لاتیریسم[1] به نام ODAP (ال–اگزالیل دی آمینوپروپیونیک اسید) و ترکیبات پلی فنولیک به نام تانن می‌باشند (Riasi *et al*,2014) که می‌توانند بر میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام تاثیرگذار باشند (Mccann *et al*,2006). بخشی از ترکیبات پلی فنولیک توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه می‌شوند، اما به نظر می‌رسد فرآوری حرارتی سبب تخریب ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در دانه خلر شود و اطلاعات در این زمینه محدود می‌باشد. با توجه به اهمیت استفاده از دانه خلر به عنوان یک منبع خوراکی جایگزین سویا به عنوان یک خوراک رایج و گران قیمت هدف از انجام این آزمایش بررسی ترکیب شیمیایی، مواد ضدتغذیه‌ای، میزان و نرخ تولید گاز و قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف فرآوری شامل ۱) اتوکلاو کردن در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد، ۲) قرار دادن در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد، ۳) اکسترود کردن در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد، ۴) برشته کردن روی حرارت مستقیم، ۵) تونل حرارتی در دمای ۱۲۰درجه سانتیگراد و ۶) تونل حرارتی در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد بود.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

واریته *Lathyrus sativus L* دانه خلر از کرمانشاه تهیه شد.

تیمارهای آزمایش

تیمار های آزمایشی شامل ۱) دانه خلر بدون فرآوری (شاهد)، ۲) خلر اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۳) خلر حرارت دیده در تونل حرارتی با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۴) خلر حرارت دیده

۱- بیماری اسـت که در اثرمصـرف خانواده بقولات به خصـوص نوعی نخود هندی ایجاد می‌شـــود که باعث جراحات بافتی، به تاخیر افتادن تکامل جنســـی و درجات مختلفی از فلجی می‌شود که در برخی مواقع با مبتلا شدن حنجره، کشنده است.

در تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد، ۵) خلر حرارت دیده در آون با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۶) خلر اکسترود در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و ۷) خلر برشته شده در ظرف چدن در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد (دماسنج صنعتی) بودند.

فرآوری دانه خلر

در فرآیند اتوکلاو از دستگاه اتوکلاو ریحان طب با ظرفیت ۷۵ لیتر استفاده شد و مقدار ۲ کیلوگرم نمونه داخل دستگاه گذاشته شد، آب درون اتوکلاو به اندازه‌ای پر شد که ۲ تا ۳ سانتیمتر بالاتر از صافی کف اتوکلاو بود و سپس در حرارت ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. سپس بعد از خروج از اتوکلاو نمونه‌ها خشک و با آسیاب در اندازه ۱ و ۲ میلی‌متر آسیاب شدند و درون ظروف مخصوص نمونه گیری تا زمان انجام آنالیزهای مورد نظر نگهداری شد.

در فرآوری با استفاده از تونل حرارتی مقدار ۱ کیلوگرم از دانه خلر داخل ظرف آلومینیومی قرار گرفته و به مدت ۲۰ دقیقه در تونل حرارتی الکتریکی با دمای ۱۲۰ و ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برای تیمار ۳ و ۴ حرارت داده شد. سپس بعد از سرد شدن با آسیاب در اندازه ۱ و ۲ میلی‌متر آسیاب شدند. لازم به ذکر است در فرآوری خلر توسط تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد تغییر رنگ دانه به سمت قهوه ای شدن اتفاق افتاد.

به منظور فرآوری در آون، مقدار ۱ کیلوگرم دانه خلر داخل ظرف آلومینیومی منتقل و سپس به درون آون با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد و سپس از آون خارج و سرد شدند.

در فرآیند اکسترود، ابتدا دانه خلر بوسیله آسیاب با توری ۲ میلی‌متر آسیاب شد. سپس رطوبت محصول با افزودن آب و مخلوط کردن آن به ۲۰ درصد افزایش یافت. با استفاده از دستگاه اکسترودر (مدل Pasen, PDXY85, China) مواد آسیاب شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد در طی عبور از میان شافت و با فشار بالای تا ۸۰ بار پخته شدند. دمای رسیدن مواد به دای تا ۱۷۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت و سپس به دلیل عبور از میان روزنه‌های دای و روبرو شدن با دما و فشار پایین اتمسفر عمل اکسپند شدن یا پفکی شدن اتفاق افتاد.

جهت برشته کردن خلر، مقدار یک کیلوگرم دانه پس از توزین به داخل ظرف چدن ریخته شد و با حرارت مستقیم گاز شهری فرآوری شد. در حین حرارت دادن دانه خلر مخلوط می‌شد تا حرارت به تمام نقاط دانه برسد و به محض اینکه رنگ کرمی به خود گرفت حرارت قطع شد.

تمامی نمونه‌ها با استفاده از آسیاب با توری ۱ و ۲ میلی‌متر آسیاب شدند و درون ظروف مخصوص نمونه‌گیری تا زمان انجام آزمایش‌های مورد نظر نگهداری شدند.

ترکیبات شیمیایی و مواد ضدتغذیه‌ای

تجزیه تقریبی دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف شامل ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، کلسیم و فسفر با استفاده از روش AOAC (AOAC. 1995) انجام شد. ماده خشک درون آون (مدل Memmer854 شرکت Schwabch کشور آلمان) با درجه حرارت ۵± ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. خاکستر در کوره الکتریکی (مدل Hot Spot Gallen Kamp کشور انگلستان) به مدت ۸ ساعت با دمای۴۵۰ درجه سانتیگراد تعیین شد. برای تعیین درصد پروتئین خام نمونه آزمایشی از روش ماکروکجلدال (با دستگاه هضم مدل ۱۰۱۵ و دستگاه تیتراسیون مدل ۱۰۳۰ شرکت tecator کشور سوئد) استفاده گردید. میزان چربی خام (عصاره اتری) نمونه‌ها با استفاده از روش سوکسله و دستگاه (Tecato Soxetc) اندازه‌گیری شد. میزان فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) با استفاده از روش ون سوست و همکاران (Van Soest *et al*,1997) و توسط دستگاه (Fibertec System Tecator 1010, Sweden) اندازه‌گیری گردید. انرژی خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه بمب کالری متر مدل 1266 PARR ساخت کشور آمریکا تعیین شد.

مقدار کل ترکیبات فنولی بر اساس روش فولین شیکالتو (Folin and Ciocalteu) اندازه‌گیری شد (Makkar, H. P. S. 2005). مقدار تانن کل از طریق محاسبه میزان اختلاف ترکیبات فنولی قبل و بعد از واکنش با پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) به دست آمد. با استفاده از محلول اسید تانیک در غلظت‌های مختلف و سپس قرائت در در طول موج ۷۲۵ نانومتر، منحنی استاندارد رسم شده و سپس مقدار ترکیبات فنولی نمونه محاسبه گردید.

پتانسیل و نرخ لحظه‌ای تولید گاز

آزمایش تولید گاز بر اساس روش منک و استینگاس (Menke and Steingass,1988) انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه خوراک آسیاب شده با الک دارای قطر منافذ ۱ میلی‌متری توزین و به داخل بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۵ میلی‌لیتری منتقل گردید، برای هر نمونه خوراک ۵ تکرار در نظر گرفته شد و آزمایش در دو ران تکرار شد. مایع شکمبه ۲ ساعت بعد از خوراک دهی صبح، از ۳ رأس گاو شیری فیستولا گذاری شده در آزمایشگاه متابولیسمی- تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی که به مدت ۲ هفته از جیره‌ای ثابت با مقدار پروتئین ۱۶ درصد تغذیه شدند، جمع آوری شد. گاوها با استفاده از جیره حاوی نسبت علوفه به کنسانتره ۵۰ به ۵۰ و در طی دو وعده تغذیه شدند و به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. مایع شکمبه توسط پارچه متقالی چهار لایه صاف شده و داخل فلاسک ریخته و سریعا به آزمایشگاه منتقل و در حمام بن ماری با دمای ۳۹ درجه‌ی سانتیگراد تحت جریان گاز دی اکسید کربن قرار گرفت. قبل از انتقال به داخل

بطری‌های شیشه‌ای، مایع شکمبه با بافر تهیه شده به روش منک و استینگاس (Menke and Steingass,1988) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. بطری‌ها قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد گرم شدند. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به بطری‌ها، جریان مداوم گاز دی‌اکسید کربن به ارلن که در بن ماری ۳۹ درجه سانتیگراد قرار داشت، تزریق شد. درون هر بطری، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل بطری به وسیله تزریق گاز دی‌اکسیدکربن درب بطری‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس آلومینیومی، به طور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه و بافر، ۳ بطری بدون اینکه ماده خوراکی ریخته شود و فقط دارای مایع شکمبه و بافر بودند (بلانک)، در نظر گرفته شد. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکردار (GFL مدل ۳۰۳۳) با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شد و فشار گاز تولیدی با استفاده از دستگاه فشارسنج در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ انکوباسیون قرائت و سپس حجم گاز تولیدی با تصحیح بر اساس بلانک و به صورت تجمعی از تبدیل فشار به حجم تصحیح شده محاسبه شد. پتانسیل و نرخ تولید گاز با استفاده از معادله ارسکوف و مکدونالد (۱۹۹۷) به شرح زیر محاسبه گردید.

$$p = a + b\,(1\text{-}e^{-ct})$$

که p گاز تولیدی در زمان t، a گاز تولیدی از بخش محلول بر اساس میلیمتر، b گاز تولیدی از بخش غیر قابل حل بر حسب میلیمتر، c ثابت نرخ تولید گاز، a+b پتانسیل گاز تولیدی بر حسب میلیمتر و t زمان انکوباسیون بر حسب ساعت می‌باشند.

قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام

برای تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف، از دو رأس گاو نر هلشتاین مجهز به فیستولای شکمبه و کانولای روده‌ای T شکل و با استفاده از کیسه‌های نایلونی متحرک (*in situ* mobile bag) بر اساس روش مهرز و اورسکوف انجام شد (۱۴). حیوانات جیره‌ای حاوی ۵/۳ کیلوگرم یونجه، ۳/۳ کیلوگرم سیلاژ ذرت، ۲/۶ کیلوگرم کنسانتره بر اساس ماده خشک طی دو وعده غذایی ساعات ۸ و ۱۸ دریافت کردند. جیره طوری تنظیم شده که سطح پروتئین آن ۱۷ درصد بود. نمونه‌های آزمایشی با آسیاب دارای مش ۲ میلی‌متری خرد شده و ۵ گرم در ۱۶ تکرار برای هر نمونه درون کیسه‌های پلی‌استری با ابعاد ۹×۱۷ سانتیمتر با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر به مدت ۱۲ ساعت درون شکمبه انکوبه شده و پس از خروج توسط ماشین لباسشویی شسته شده و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس ۱ گرم از نمونه‌های باقیمانده به‌درون کیسه‌های با ابعاد ۳ ×۶ سانتیمتر با قطر منافذ ۲۴ میکرومتر ریخته و درب آن با استفاده از حرارت بسته شد. در فواصل هر نیم‌ساعت یک کیسه وارد ابتدای روده باریک شد و سپس کیسه‌ها از مدفوع جمع‌آوری گردید و شسته شده و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک قرار داده شد. مقدار پروتئین نمونه‌های باقیمانده با استفاده از روش کجلدال تعیین گردید. سپس قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای بر اساس فرمول‌های مربوطه محاسبه شد.

معادله (۱)

۱۰۰ * (وزن ماده خشک نمونه اولیه / (وزن ماده خشک باقیمانده بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای — وزن ماده خشک نمونه اولیه) = قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک (٪)

معادله (۲)

۱۰۰ * (مقدار پروتئین نمونه اولیه / (مقدار پروتئین باقیمانده بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای – مقدار پروتئین نمونه اولیه) = قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام (٪)

معادله (۳)

۱۰۰ * (وزن ماده خشک نمونه بعد از شکمبه / (وزن ماده خشک باقیمانده بعد از انکوباسیون روده‌ای — وزن ماده خشک نمونه بعد از شکمبه) = قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک (٪)

معادله (۴)

۱۰۰ * (مقدار پروتئین نمونه بعد از شکمبه / (مقدار پروتئین باقیمانده بعد از انکوباسیون روده‌ای — مقدار پروتئین نمونه بعد از شکمبه) = قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام (٪)

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و توسط نرم‌افزار SAS (SAS, 2003) نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مدل آماری مورد استفاده Yij=µ+Ti+eij بود که در این مدل Yij متغیر وابسته، µ میانگین کل، Ti اثر جیره و eij اثر باقی‌مانده می‌باشد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی

جدول (۱) ترکیب شیمیایی دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی را نشان می‌دهد. ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، انرژی خام، چربی خام، کلسیم و فسفر تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری قرار نگرفت (P<۰/۰۵). اما مقدار ADF و NDF با روش‌های فرآوری حرارتی به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود (P<۰/۰۵). روش تونل حرارتی‌گذاری در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد سبب کاهش معنی‌دار در مقدار ADF و NDF نسبت به سایر روش‌های فرآوری

حرارتی شد که به احتمال زیاد به دلیل سوختن دیواره سلولی دانه خلر در دمای بالا است که منجر به کاهش مقدار سلولز و همی سلولز شده است. میزان ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام در دانه خلر در مطالعه حاضر با مطالعات رزم آذر و همکاران (Razm-Azar et al,2012) همخوانی داشت، اما مقادیر ADF و NDF دانه خلر در مطالعه حاضر بیشتر از مطالعه آن محققین بدست آمد. آلتور و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که میانگین پروتئین خام دانه خلر ۳۲/۵ درصد بود و تفاوت بین مطالعات را به ژنتیک واریته دانه خلر نسبت دادند. همچنین این محققین بیان کردند که پروتئین دانه خلر نسبت به دانه سویا کمتر بود، اما مقادیر ADF، NDF و خاکستر دانه خلر مشابه با دانه سویا بود. خراسانی و همکاران (Khorasani et al,2020) نشان دادند که مقدار پروتئین، انرژی، چربی و کلسیم و فسفر در دانه سویای خام، برشته شده و اکسترود شده اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین خراسانی و همکاران (Khorasani et al,2020) گزارش کردند که مقادیر ADF و NDF تحت تأثیر فرآیند اکسترود و برشته شدن دانه سویا قرار نگرفت، در حالیکه در مطالعه حاضر شاخص‌های فیبری دانه خلر با فرآوری حرارتی نسبت به دانه خلر خام کاهش معنی‌داری داشت.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی

Table 1- Chemical composition of *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

روش‌های مختلف فرآوری Different processing methods	ماده خشک (٪) Dry matter (%)	خاکستر (٪) Ash (%)	پروتئین (٪) Protein (%)	انرژی خام (کیلوکالری) Gross Energy (kcal)	چربی (٪) Fat (%)	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (٪) ADF (%)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪) NDF (%)	کلسیم (٪) Calcium (%)	فسفر (٪) Phosphorus (%)
بدون فرآوری No processing	92.33	3.65	27.44	3770	2.96	35.44 [a]	48.13 [a]	0.19	0.34
اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Autoclaved at 120 °C	93	2.80	26.81	3828	2.07	34.10 [b]	42.33 [b]	0.20	0.30
اکسترود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد Extruded at 110 °C	94.21	3.20	27.12	3984	2.77	34.21 [b]	43.07 [b]	0.30	0.31
آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد Oven drying at 100°C	97.66	2.97	26.72	3730	2.33	34.38 [b]	41.83 [bc]	0.30	0.30
تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Furnaced at 120 °C	97.92	2.97	26.68	3794	2.38	33.42 [b]	37.91 [c]	0.20	0.32
تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد Furnace at 200 °C	99.12	2.73	26.89	4045	2.47	27.45 [c]	29.41 [d]	0.20	0.32
برشته شده Roasted	99.1	3.03	26.94	3857	2.81	31.26 [bc]	32.37 [c]	0.30	0.35
خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	2.114	1.147	1.098	210	0.685	0.139	0.121	0.012	0.028
سطح معنی‌داری P-Value	0.219	0.487	0.089	0.198	0.296	0.028	0.019	0.419	0.327

[a,b] حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a,b] Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

در مطالعه حاضر بخش‌های نیتروژنی دانه خلر هنگام فرآوری با روش‌های مختلف حرارتی اندازه‌گیری نشد، اما مطالعات خراسانی و همکاران (Khorasani et al,2020) نشان داد که فرآوری حرارتی اکسترود و برشته کردن سبب کاهش مقدار نیتروژن غیر پروتئینی و

افزایش میزان پروتئین حقیقی در دانه سویا گردید که نشان دهنده افزایش میزان پروتئین عبوری هنگام فرآوری دانه سویا با حرارت است. فتاح نیا و همکاران (Fatahnia *et al*,2014) نشان دادند که حرارت دادن سویا بر مقدار ماده آلی اثری نداشت، اما فرآوری حرارتی سبب افزایش درصد ماده خشک، پروتئین خام و عصاره اتری دانه سویا در مقایسه با سویای خام شد و به گزارش آنها تفاوت در محتوای پروتئین خام و ماده خشک میتواند به ترتیب بیانگر تفاوت در روش فرآوری و اثر حرارت بر تبخیر آب موجود در دانه سویا باشد. مقادیر کلسیم و فسفر دانه خلر در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه ریاسی و همکاران (Riasi *et al*,2014) کمتر بود. طحان و همکاران (Tahan *et al*,2012) اثر پرتوتابی الکترونی بر فراسنجه‌های تجزیه پذیری و قابلیت هضم شکمبه‌ای و پس از شکمبه ای ماده خشک و پروتئین خام کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری بررسی کردند. پرتوتابی بر مقدار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر مواد خوراکی اثری نداشت.

دانه خلر فرآوری نشده و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد تفاوتی در کل ترکیبات فنلی و مقدار تانن نشان ندادند (P>۰/۰۵)، اما اتوکلاو و اکسترود کردن به طور مشابه‌ای سبب کاهش مقدار ترکیبات فنلی موجود در دانه خلر نسبت به شاهد شدند (P<۰/۰۵). همچنین روش تونل حرارتی در ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن حتی بیشتر از اتوکلاو و اکسترود کردن سبب کاهش کل ترکیبات فنلی شد. مقدار تانن دانه خلر با روش‌های اکسترود، تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن به طور معنی‌داری کمتر از مقدار تانن موجود در دانه خلر شاهد و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد بود (P<۰/۰۵). فرآوری دانه خلر در تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد نسبت به سایر روش‌های فرآوری حرارتی مقدار تانن و کل ترکیبات فنولی را به طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵).

دانه خلر دارای برخی از فاکتورهای ضد تغذیه‌ای مانند تانن‌ها، ممانعت کننده پروتئازها، ممانعت کننده آمیلاز و بتا اگزالیل دی آمینو پروپیونیک اسید (β-ODAP) است (Hanbury *et al*,2010; Sharma *et al*, 2003). گزارش‌هایی وجود دارد که پوسته‌گیری، خیساندن، عمل‌آوری حرارتی و استفاده از مکمل‌های آنزیمی ممکن است اثر ترکیبات ضد تغذیه‌ای دانه خام خلر را به مقدار زیادی کاهش دهد (Tadelle *et al*,2003). راماچاندارن و رای (Ramachandran and Ray,2008) نیز گزارش نمودند که با اتوکلاو کردن دانه خلر میزان تانن آن کاهش یافت، اما عوامل ضد تغذیه‌ای دیگر آن تحت تاثیر این روش عمل آوری قرار نگرفت.

نتایج مطالعه حاضر از لحاظ مقدار تانن کل دانه خلر مشابه با مطالعات ریاسی و همکاران (Riasi *et al*,2014) بود. عمل آوری حرارتی در آون با دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱، ۲ و ۳ ساعت در مطالعه آن محققین سبب کاهش مقدار تانن کل و تانن متراکم شد که این نتایج با مطالعه حاضر هنگام فرآوری حرارتی دانه خلر با اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتیگراد، اکسترود ۱۱۰ درجه سانتیگراد، تونل حرارتی در هر دو دمای ۱۲۰ و ۲۰۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن همخوانی داشت که سبب کاهش معنی دار در غلظت تانن کل و غلظت ترکیبات فنلی کل شد. مقدار تانن متراکم موجود در دانه خلر بین صفر تا ۴/۳۸ درصد گزارش شده است و فرآوری های حرارتی سبب غیر فعال شدن تانن‌های متراکم درون دانه می‌شود (Tahan *et al*,2012). شارما و همکاران (Sharma *et al*, 2003) نیز نشان دادند که راندمان غذایی به طور معکوسی تحت تأثیر مقدار دانه خلر در جیره جوجه های گوشتی قرار می‌گیرد و عمل آوری دانه خلر از طریق اتوکلاو کردن به دلیل کاهش عوامل ضدتغذیه‌ای سبب بهبود قابلیت هضم نشاسته، پروتئین خام، فیبر و به دنبال آن بهبود در عملکرد و رشد جوجه‌های گوشتی شده است. اما زید علی نژاد (ZeidAli-Nejad *et al*,2018) نشان داد که استفاده از مقادیر ۲۵ و ۵۰ درصد کنجاله سویای اکسترود شده نسبت به جیره شاهد منجر به کاهش قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام شد (ZeidAli-Nejad *et al*,2018).

در مطالعه حاضر مقدار ODAP اندازه‌گیری نشد، اما ریاسی و همکاران (Riasi *et al*,2014) نشان دادند که غلظت ODAP با اعمال فرآوری حرارتی در دانه خلر کاهش یافت. تادل و همکاران (Tadelle *et al*,2003) نشان دادند که از بین روش‌های مختلف فرآوری حرارتی، برشته کردن سبب کاهش معنی‌دار در غلظت ODAP می‌شود. اگرچه گزارش شده است که باکتری‌های شکمبه سبب تخریب تانن‌ها و ODAP می‌شوند، اما پنگ و بروکر (Peng and Brooker, 2000) نشان دادند که برخی گونه‌های باکتریایی مثل *Prevotella* و *P. ruminicola* قادر به تجزیه این ترکیبات ضد تغذیه‌ای نیستند و حرارت دادن به عنوان راهکار مفیدی برای کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای است.

پتانسیل و نرخ لحظه‌ای تولید گاز

میزان تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون و ثابت نرخ تولید گاز به طور معنی‌داری تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری حرارتی قرار گرفت (P<۰/۰۵) (جدول ۳). در ساعات اولیه انکوباسیون (۲ و ۸ ساعت) مقدار تولید گاز در دانه خلر فرآوری نشده و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد مشابه و بالاتر از روش اتوکلاو، تونل حرارتی در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن بود.

جدول ۲– مقدار ترکیبات فنولیک و تانن موجود در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف حرارتی

Table 2- Polyphenolic composition and tannin percentage of *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

روش‌های مختلف فرآوری Different processing methods	ترکیبات فنلی (٪) Polyphenolic composition (%)	تانن (٪) Tannin (%)
بدون فرآوری No processing	0.56 [a]	0.34 [a]
اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Autoclaved at 120 °C	0.44 [b]	0.24 [b]
اکسترود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد Extruded at 110 °C	0.39 [b]	0.14 [c]
آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد Oven drying at 100°C	0.56 [a]	0.34 [a]
تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Furnaced at 120 °C	0.27 [c]	0.16 [c]
تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد Furnace at 200 °C	0.18 [d]	0.10 [d]
برشته شده Roasted	0.29 [c]	0.17 [c]
خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	0.101	0.118
سطح معنی‌داری P-Value	0.034	0.028

[a,b] حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a,b] Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

اکسترود کردن میزان تولید گاز را در ساعات اولیه انکوباسیون نسبت به همه روش‌های فرآوری به جز تونل حرارتی گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش داد (P<۰/۰۵). روش تونل حرارتی‌گذاری در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون را به شدت کاهش داد (P<۰/۰۵). در زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت خلر اکسترود مقدار تولید گاز را نسبت به ساعات اولیه انکوباسیون افزایش داد و تا ساعت ۹۶ انکوباسیون این روند ادامه یافت. همچنین روش اتوکلاو در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز چنین روندی را نشان داد. اما خلر بدون فرآوری و تونل حرارتی‌گذاری شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در ساعات انتهایی انکوباسیون مقدار تولید گاز کمتری نسبت به ساعات اولیه نشان دادند. روش برشته کردن نیز در ساعات ابتدایی انکوباسیون مقدار گاز کمتری تولید کرد، ولی در زمان ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون مقدار تولید گاز را افزایش دادند. روش تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد در همان ساعات اولیه انکوباسیون و تا انتهای زمان انکوباسیون مقدار گاز کمتری نسبت به سایر روش‌ها تولید کرد. نرخ تولید گاز در هر دو روش اکسترود در ۱۱۰ درجه سانتیگراد و اتوکلاو در ۱۲۰ درجه سانتیگراد بالاتر از روش‌های بدون فرآوری، آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. نرخ تولید گاز در خلر فرآوری شده با روش تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر روش‌ها به طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۵).

منک و استینگاس (Menke and Steingass,1988) گزارش نمودند که وقتی از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود، فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و یا نوع فرآوری خاص روی خوراک مورد نظر قرار نمی گیرد. طی فرآیند تخمیر در شرایط تولید گاز، کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گازهای متان و دی اکسید کربن تبدیل می‌شوند. تولید گاز در شرایط عمل آوری حرارتی در صورتیکه واکنش میلارد شدید صورت گرفته باشد کاهش می‌یابد. یا در مواردی که خوراک دارای دیواره سلولی قوی‌تری باشد، تولید گاز کاهش می‌یابد. مطالعات رزم آذر و همکاران (Razm-Azar *et al*,2012) روی تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان داد که در تمام زمان‌ها به جز ۲ ساعت انکوباسیون، میزان گاز تولید بین دانه خلر، دانه ماشک و گاودانه تفاوت معنی‌داری داشت. دانه گاودانه نسبت به دانه خلر و ماشک میزان و ثابت نرخ تولید گاز بیشتری داشت. صادقی و همکاران (۲۶) گزارش کردند که قابلیت هضم پروتئین خام به روش *in vitro* در ساعات مختلف انکوباسیون ۰، ۸، ۱۲ و ۲۴ به ترتیب برای کنجاله سویای تف داده نشده ۶۸/۲۷، ۸۰/۶۸، ۹۴/۸۱ و ۹۵/۵۳ درصد و برای کنجاله سویای تف داده شده به ترتیب ۶۴/۳۲، ۸۴/۲۸، ۸۹/۰۳ و ۹۲/۲۸ درصد بود. این محققین کاهش قابلیت هضم پروتئین خام در کنجاله سویای برشته شده را به واکنش میلارد بین پروتئین و قندهای موجود در کنجاله سویا نسبت دادند. بنابراین کاهش میزان تولید گاز در ساعات مختلف

انکوباسیون طی فرآوری‌های شدید مثل تونل حرارتی‌گذاری می‌تواند به تشکیل واکنش میلارد قوی بین پروتئین دانه خلر و قندهای احیا کننده ارتباط داشته باشد.

در مطالعه حاضر روش اکسترود، اتوکلاو و به مقدار کمتر برشته کردن سبب کاهش تخمیر در ساعات اولیه انکوباسیون و افزایش تخمیر از ساعت ۲۴ تا انتهای زمان انکوباسیون شد. این نتایج در راستای مطالعات خراسانی و همکاران (Khorasani *et al*,2020) بود که گزارش کردند فرآیندهای حرارتی سبب افزایش بخش کند تجزیه و کاهش در تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا می‌شود. این محققین معتقدند که کاهش میزان هضم دانه سویا در ساعات اولیه انکوباسیون در شکمبه توسط عمل آوری حرارتی (تف دادن و اکسترود کردن)، با افزایش در قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای جبران گردید که نشان دهنده تغییر مکان هضم پروتئین از شکمبه به سمت روده باریک می‌باشد. پیشنهاد شده است که فرآیندهای حرارتی مثل تف دادن و اکسترود کردن راهبرد مناسبی در کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای دانه سویا و تأمین پروتئین عبوری مورد نیاز گاوهای شیری می‌باشد. نواک و همکاران (Nowak *et al*, 2005) نشان دادند که دمای مورد استفاده جهت عمل آوری حرارتی مهم بوده به طوری که حرارت بیش از حد مطلوب (بالای ۱۶۵ درجه طبق اکثر آزمایشات) اگر چه ممکن است پروتئین سویا را در برابر فعالیت میکروبی در شکمبه محافظت کند، ولی پروتئین غیرقابل هضم در روده تشکیل می‌شود. ثابت نرخ تولید گاز پایین و کاهش میزان گاز تولیدی در تمام ساعات انکوباسیون هنگام فرآوری در تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد گواه بر این ادعا است که دمای بالا سبب ایجاد کمپلکس‌های محکمی از پروتئین در دانه خلر و کاهش تجزیه آن از همان ابتدا تا ساعات پایانی انکوباسیون گردید. نتایج آزمایش تولید گاز در راستای نتایج آزمایش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای ماده خشک و پروتئین خام بود.

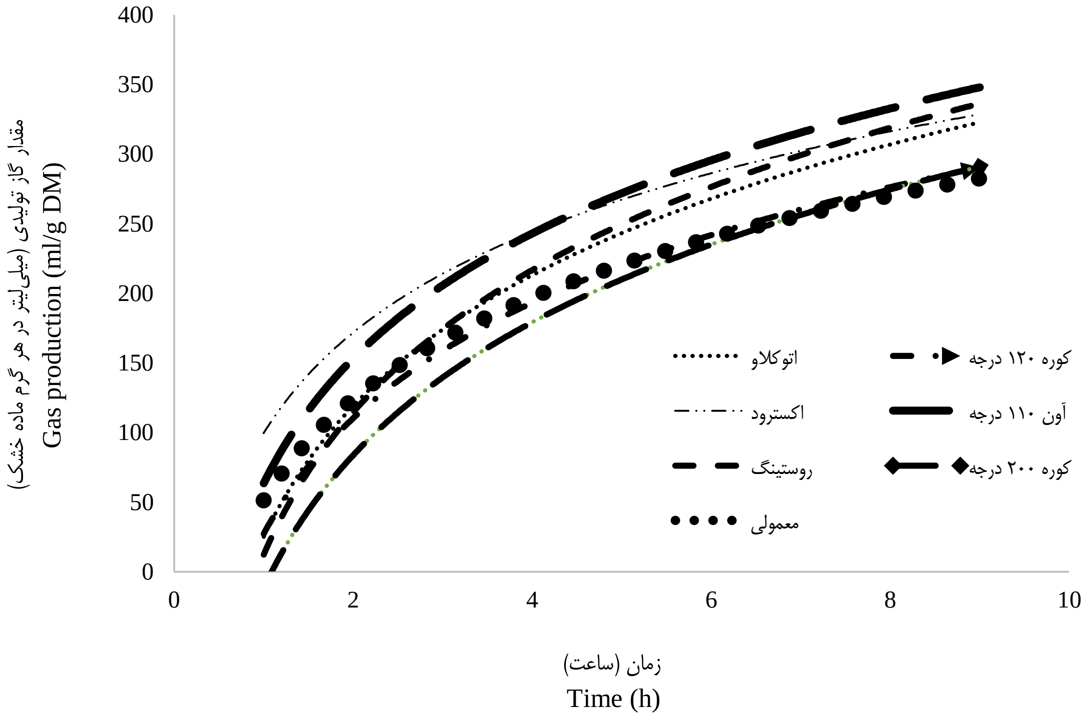
جدول ۳– میزان تولید گاز (میلی لیتر در گرم ماده خشک) در زمان‌های مختلف و ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در گرم ماده خشک در ساعت) در دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی

Table 3- Gas production (ml/g DM) and rate of gas production (ml/h/g DM) in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

روش‌های مختلف فرآوری Different process	2	8	12	24	48	72	96	نرخ تولید گاز rate of gas production
بدون فرآوری No processing	82.48 ᵃ	187.30 ᵃ	199.39 ᵇ	236.48 ᵇ	269.35 ᵃᵇ	285.11ᵇ	291.79 ᵇ	0.08 ᵇ
اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Autoclaved at °C	57.76 ᵇ	173.37 ᵇ	198.86 ᵇ	277.86 ᵃᵇ	317.95 ᵇ	332.38 ᵃ	340.13 ᵃ	0.10 ᵃ
اکسترود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد Extruded at 110 °C	41.19 ᶜ	162.40 ᶜ	231.10 ᵃ	298.13 ᵃ	338.48 ᵃ	337.99 ᵃ	349.48 ᵃ	0.13 ᵃ
آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد Oven drying at 100°C	84.38 ᵃ	227.61 ᵃ	251.53 ᵃ	298.82 ᵃ	333.30 ᵃ	343.98 ᵃ	354.67 ᵃ	0.08 ᵇ
تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Furnaced at 120 °C	58.58 ᵇ	175.85 ᵇ	182.46 ᵇ	266.84 ᵇ	286.08 ᵇ	290.09 ᵇ	296.24 ᵇ	0.09 ᵇ
تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد Furnace °C	20.60 ᵈ	127.10 ᵈ	147.80 ᶜ	229.76 ᶜ	230.69 ᶜ	292.87 ᵇ	289.44 ᵇ	0.04 ᵈ
برشته شده Roasted	57.5 ᵇ	171.18 ᵇ	201.01 ᵇ	280.28 ᵃᵇ	339.99 ᵃ	348.16 ᵃ	361.79 ᵃ	0.06 ᶜ
میانگین خطای استاندارد SEM	5.874	19.948	21.345	25.211	30.128	31.214	32.109	0.003
سطح معنی داری P-Value	0.001	0.009	0.008	0.029	0.030	0.048	0.046	0.039

[a,b] حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a,b] Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).



شکل ۱– روند تولید گاز دانه خلر فرآوری نشده و فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی

Figure 1- Gas production trend in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام

همانطور که در جدول (۴) مشاهده می‌شود، قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده ای و کل دستگاه گوارش برای ماده خشک به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری قرار گرفت (P<۰/۰۵). مقدار قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای ماده خشک در خلر اکسترود شده نسبت به سایر روش‌های فرآوری بالاتر بود. قابلیت هضم شکمبه‌ای در دانه خلر بدون فرآوری، فرآوری شده در آون و تونل حرارتی ۱۲۰ مشابه بودند. اما روش اتوکلاو در ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک دانه خلر را نسبت به فرآوری در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد و تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتیگراد کاهش داد. تونل حرارتی‌گذاری در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش شدید قابلیت هضم شکمبه‌ای در دانه خلر شد. قابلیت هضم روده ای در دانه خلر بدون فرآوری و در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر روش‌ها کمتر بود.

درراستای ماده خشک، قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده ای و کل دستگاه گوارش برای پروتئین خام نیز به طور معنی‌داری تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری حرارتی قرار گرفت (P<۰/۰۵). میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای در دانه خلر خام و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از سایر روش‌ها بود. با استفاده از تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد مقدار قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام کمتر از دانه خلر فرآوری نشده و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه مشاهده شد. اما روش اکسترود کردن و تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد مقدار قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام را به شدت کاهش داد. قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام در روش اتوکلاو، اکسترود و برشته کردن بالاتر از سایر روش‌ها بود، اما در روش تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کمتر از سایر روش‌ها بود (P<۰/۰۵). قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش در روش اکسترود بالاتر از همه روش‌ها و در روش تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کمتر از سایر روش‌ها بود.

نواک و همکاران (Nowak *et al*, 2005) مشاهده کردند فرآیند حرارتی اکسترود کردن در دمای ۱۵۵ و ۱۶۵ درجه سانتیگراد باعث کاهش تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین در شکمبه شد. استرن (Stern *et al*,1985) نشان داد که فرآوری حرارتی سویا به روش اکسترود کردن در دمای ۱۵۰ درجه سانتیگراد تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه را در مقایسه با سویای خام، کاهش داد. استرن (Stern *et al*,1985) گزارش کرد که اکسترود کردن در دمای پایین‌تر (۱۳۲ درجه سانتیگراد) جهت کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین مفید نیست، درحالیکه در مطالعه حاضر دمای اکسترودر ۱۱۰ درجه سانتیگراد و دمای خروجی از دای در ۱۷۰ درجه سانتیگراد سبب کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام شد. در مطالعه فتحی نسری (Fathi Nasri, 2005) مطابق نتایج حاضر میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین

خام دانه سویا تحت تأثیر عمل‌آوری تف دادن کاهش یافت. گزارش شده است که اکسترود کردن (Reddy *et al*,1993) و برشته کردن (Owens *et al*,1997) دانه سویا سبب افزایش جریان پروتئین و اسیدهای آمینه به روده باریک شده و همچنین فعالیت فاکتورهای ضدتغذیه‌ای را کاهش می‌دهد. بهبود در تولید شیر در سویای حرارت دیده شده نسبت به سویای خام مشاهده شده است (Reynal and Broderick, 2005) که به افزایش عبور پروتئین به روده و قابلیت هضم روده ای بالاتر پروتئین نسبت داده شده است. گزارشاتی هست که اکسترود کردن سویا در دمای ۱۱۶، ۱۳۸ و ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد ناپدیدی ماده خشک در شکمبه را کاهش داده است. اما حرارت بالاتر از ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام شد (Owens *et al*,1997). بنچار و مونکولن (Benchaar and Moncoulon, 1993) گزارش کردند که فرآیند اکسترود کردن دانه سویا در دمای ۱۹۵ درجه سانتیگراد سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه از ۹۰ به ۵۸ درصد و افزایش قابلیت دسترسی پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه از ۷۸ به ۹۱ درصد شد. آلدریچ و همکاران (Aldrich *et al*,1997) گزارش کردند عمل آوری حرارتی تف دادن و اکسترود کردن سبب بهبود در میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای پروتئین خام و اسیدهای آمینه دانه سویا شد. همچنین فعالیت بازدارنده تریپسین را قبل و بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای مورد مطالعه قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که تخمیر شکمبه‌ای نمیتواند سبب حذف اثرات منفی فعالیت بازدارنده تریپسین بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه دانه سویا در روده باریک شود. فرآیندهای تف دادن و اکسترود کردن سبب کاهش در میزان فعالیت بازدارنده تریپسین دانه سویا شد و یکی از دلایل افزایش قابلیت هضم روده‌ای اسیدهای آمینه بود. طحان و همکاران (Tahan *et al*,2012) درآزمایش پرتوتابی کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر نشان دادند که پرتوتابی در مقادیر کمتر از ۱۵۰کیلوگری باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه در پروتئین خام کنجاله سویا شد. قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای و قابلیت هضم کل دستگاه گوارش پروتئین خام دانه خلر در هر سه مقدار پرتو تابی شده با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری نسبت به دانه خلر پرتو تابی نشده افزایش یافت و مناسبترین مقدار پرتوتابی برای بهبود کیفیت پروتئین ۱۰۰کیلوگری بود. به گفته این محققین پرتوتابی الکترونی بر هضم پذیری پروتئین در کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر اثرات متفاوتی داشت، ولی در مجموع به ویژه در مورد دانه خلر باعث بهبود کیفیت پروتئین شد.

جدول ٤- قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای برای ماده خشک در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف حرارتی (بر حسب درصد)

Table 4- Digestibility of Rumen and intestine for dry matter in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods (based on percentage)

روش‌های مختلف فرآوری Different process	قابلیت هضم شکمبه‌ای Ruminal digestibility	قابلیت هضم روده‌ای Intestinal digestibility
بدون فرآوری No processing	61.02 [b]	34.27 [c]
اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Autoclaved at °C	51.09 [c]	57.04 [a]
اکسترود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد Extruded at 110 °C	69.93 [a]	55.94 [a]
آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد Oven drying at 100°C	58.89 [b]	30.80 [c]
تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Furnaced at 120 °C	51.13 [b]	50.92 [ab]
تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد Furnace °C	40.39 [d]	41.29 [b]
برشته شده Roasted	46.75 [c]	59.34 [a]
میانگین خطای استاندارد SEM	1.768	1.996
سطح معنی داری P-Value	<0.0001	<0.0001

[a,b] حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a,b] Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۵- قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای برای پروتئین خام در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های حرارتی (بر حسب درصد)

Table 5- Digestibility of Rumen and intestine for protein in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods (based on percentage)

روش‌های مختلف فرآوری Different process	قابلیت هضم شکمبه‌ای Rumen digestibility	قابلیت هضم روده‌ای Intestine digestibility
بدون فرآوری No processing	82.01 [a]	70.76 [b]
اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Autoclaved at °C	54.16 [c]	79.96 [a]
اکسترود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد Extruded at 110 °C	42.22 [e]	83.90 [a]
آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد Oven drying at 100°C	82.17 [a]	68.83 [b]
تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد Furnaced at 120 °C	62.72 [b]	75.95 [ab]
تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد Furnace °C	41.11 [e]	56.27 [c]
برشته شده Roasted	47.73 [d]	79.50 [a]
میانگین خطای استاندارد SEM	2.515	1.514
سطح معنی داری P-Value	<0.0001	<0.0001

[a,b] حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a,b] Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

در توافق با مطالعه حاضر، خراسانی و همکاران (Khorasani *et al*,2020) گزارش کردند که تحت تأثیر عمل آوری حرارتی تف دادن و اکسترود کردن میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا افزایش یافت. این محققین گزارش کردند که میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا تحت فرآیند تف دادن به ترتیب ۵۶/۶ و ۵۷/۵ درصد افزایش و تحت فرآیند اکسترود کردن ۷۱/۵ و ۷۳/۱ درصد افزایش یافت. اکسترود کردن در مقایسه با فرآیند تف دادن سبب افزایش بیشتری در میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد. به گفته این محققین قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین در کل دستگاه گوارش تحت تأثیر فرآیند تف دادن بطور اندکی افزایش یافت، اما اکسترود کردن بطور معنی‌داری سبب افزایش قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش شد. به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر اکسترود کردن، اتوکلاو کردن و برشته کردن با کاهش میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای و افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارش سبب بهبود استفاده از مواد مغذی دانه خلر می‌شود به طوری که محل هضم مواد مغذی را از شکمبه به روده باریک انتقال داده و سبب افزایش میزان مواد مغذی قابل هضم در روده می‌شود. افزایش قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش نشان می‌دهد کاهش هضم شکمبه‌ای دانه خلر تحت تأثیر فرآیندهای اکسترود کردن، اتوکلاو کردن و برشته کردن توسط افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای جبران شده است.

درحالیکه عمل آوری حرارتی شدید مثل تونل حرارتی گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش شد که ممکن است به دلیل دناتوره شدن پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین – کربوهیدرات باشد که تجزیه مواد را در شکمبه و روده کاهش داده است.

نتیجه‌گیری کلی

آزمایشات *in vitro* و *in situ* در مطالعه حاضر نشان داد که فرآیندهای اکسترود کردن در ۱۱۰ درجه سانتیگراد، اتوکلاو کردن در ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن منجر به کاهش میزان تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون و کاهش هضم پروتئین دانه خلر در شکمبه می‌شوند، اما افزایش نرخ و میزان تولید گاز در ساعات پایان انکوباسیون و افزایش قابلیت هضم روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای پروتئین خام نشان دهنده تغییر مکان هضم پروتئین از شکمبه به سمت روده باریک است. در عمل آوری درون تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به دلیل دناتوره شدن شدید پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین-کربوهیدرات، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دانه خلر در شکمبه و روده کاهش یافت. همچنین نتایج مطالعات ما در تأیید مطالعات سایرین سبب کاهش غلظت تانن کل و ترکیبات فنلی کل در دانه خلر گردید.

Refrences

1.Aldrich, C. G., N. R. Merchen, C. M. Parsons, H. S. Hussein, S. Ingram, and J. R. Clodfelter. 1997. Assessment of postruminal amino acid digestibility of roasted and extruded whole soybeans with the precision-fed rooster assay. Journal of Animal Science, 75: 3046–3051.

2.Amirabadi, Z., A. Riasi, H. Janmohammadi, H. Farhangfar, M. H. Fathi Nasri. 2010. The Effect of Raw and Heated Grass Pea (*Lathyrus sativus*) Seed on Growth Performance and some Blood Metabolites of Broiler Chickens. Animal Science Researches, 20 (4): 53-66. (In Persian).

3.AOAC. 1995. Official methods of analysis. (16th ed). Arlington VA., Association of Official Analytical Chemists.

4.Benchaar, C, and R. Moncoulon. 1993. Effetdel'extrusiona195°C sur la disparition des acides amines du lupin dans le rumen et l'intestin in situ chez lavache. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 42:128–129.

5.Chouinard, P. Y., J. Lévesque, V. Girard, and G. J. Brisson. 1997. Dietary Soybeans Extruded at Different Temperatures: Milk Composition and In Situ Fatty Acid Reactions. Journal of Dairy Science, 80: 2913–2924.

6.Fatahnia, F., S. G. Mosavi, E. Abdi, and A. N. Shokri. 2014. Effect of Roasting and Extruding on Nitrogen Fractions and Ruminal Degradability of Soybean Seed Protein. Research on Animal Production, 5(10): 84-97. (In Persian).

7.Fathi Nasri, M. H. 2005. Impact of the use of raw and heated soybeans on digestive factors, milk production and composition Holstein cows. PhD thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).

8.Gatel, F. 1994. Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. Journal of Animal Feed Science and Technology, 45:317−348.

9.Hanbury, C. D., C. L. White, B. P. Mullan, and K. H. M. Siddique. 2000. A Review of the Potential of *Lathyrus sativus* L. and *Lathyrus Cicera* L. Grain for use as Animal Feed. Journal of Animal Feed Science and Technology, 87: 1-27.

10.Khorasani, H., M. Bashtani, A. Forughi, H. FarhangFar, and F. Ganji. 2020. Effects of roasting and extruding heat processes on chemical composition, degradability fractions and intestinal digestibility of dry matter and crude protein of whole soybeans. Iranian Journal of Animal Science Research, 11 (4): 399-412.

11.Low, R. K. C., R. G. Rotter, R. R. Marquardt, and C. G. Campbell. 1990. Use of Lathyrus sativus L. (var. Seminis albi) as a foodstuff for poultry. Journal of British Poultry Science, 31:615-625.

12.Makkar, H. P. S. 2005. In vitro Gas Methods for Evaluation of Feeds Containing Phytochemicals. Animal Feed Science and Technology, 123: 365-377.

13.Mccann, M. E. E., E. Newell, C. Preston, and K. Forbes. 2006. The use of mannan oligosacharides and/or tannin in broiler diets. International Journal of Poultry Science, 5(9): 873-879.

14.Mehrez, A. Z., and E. R. Orskov. 1977. A study of artificial fiber bag technique for determining the digestibility offeeds in the rumen. Journal of Agriculture Science, 88: 645–650.

15.Menke, H. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research Development, 28: 7-55.

16.Noeroozi Deyarjan1, M., A. Assadi-Alamouti, A. Afzalzadeh, and M. Danesh Mesgaran. 2017. Effects of replacing soybean meal with heat-treated soybean meal in diets varying in crude preotien content on performance of dairy cows under mild heat stress. Journal of Animal Production, 19: 4. 751-763.

17.Nowak, W., S. Michalak, and S. Wylegala. 2005. In situ evaluation of ruminal degradability and intestinal digestibility of extruded soybeans. Czech. Journal of Animal Science, 50: 281–287.

18.Orskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92: 499-503.

19.Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. 1997. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle. A review. Journal of Animal Science, 75:868-879.

20.Peng, H. H. and Brooker, J. D. 2000. Isolation of ODAP-degrading Bacteria from the Sheep Rumen. Lathyrus Lathyrism Newsletter, 1: 33.

21.Ramachandran, S., and A. K. Ray. 2008. Effect of Different Processing Techniques on the Nutritive Value of Grass Pea, *Lathyrus sativus L.*, Seed Meal in Compound Diets for Indian Major Carp Rohu, Labeo Rohita (Hamilton), Fingerling. Archives of Polish Fisheries**,** 16: 189-202.

22.Razm-Azar, V., N. M. Torbatinejad, J. Seifdavati, and S. Hassani. 2012. Evaluation of chemical characteristics, rumen fermentation and digestibility of *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus* and *Vicia ervilia* grain by in vitro methods. Journal of Animal Science Researches, 22(2):107-119. (In Persian).

23.Reddy, P. V., J. L. Morrill, and L. S. Bates. 1993. Effect of roasting temperatures on soybean utilization by young dairy calves. Journal of Dairy Science, 76: 1387–1393.

24.Reynal, S., and G. Broderick. 2005. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 88: 4045-4064.

25.Riasi, A., M. Golizadeh, M. H. Fathi, N. Asadzadeh, and A. Taghizadeh. 2014. Determination of the Nutritive Value of Unheated vs. Heat Processed Grass Pea Seed in Ruminants. Journal of Agricultural Science and Technology, 16: 527-536.

26.Sadeghi, A. A., A. Nikkhah, and P. Shawrang. 2005. Effects of heat processing on ruminal protein degradation of

soybean meal. Journal of Agricultural Sciences, 11(3): 189-200.
27.SAS, 2003. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
28.Sharma, A., M. Kalia, and S. R. Malhotra. 2003. Effect of antinuritional factors in Khesari seeds (*Lathyrus sativus*) on the biological performance of chickens. Lathyrus Lathyrism, 3: 1-3.
29.Stern, M. D., K. A. Santos, and L. D. Satter. 1985. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. Journal of Dairy Science, 68: 45–56.
30.Tadelle, D., Y. Alemu, D. Nigusie, and K. J. Peters. 2003. Evaluation of Processing Methods on the Feeding Value of Grass Pea to Broilers. International Journal of Poultry Science, 2(2): 120- 127.
31.Tahan, G., M. H. Fathi Nasri, A. Riasi, M. Behgar, and H. Farhangfar. 2012. The effect of electron irradiation on the parameters of degradability and ruminal and post-ruminal digestibility of dry matter and crude protein of some plant protein sources. Iranian Journal of Animal Science Research, 3(4): 422-434.
32.Van Soest, P. V., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74:3583-3597.
33.Yan, Z. Y., P. S. Spender,, Z. X, Li,, Y. M. Liang,., Y. F. Wang,, C. Y. Wang,., and F. M. Li. 2006. *Lathyrus sativus* (grass pea) and its neurotoxin ODAP. Phytochemistry, 67: 107-121.
34.ZeidAli-Nejad, A., G. R. Ghorbani, S. Kargar, A. Sadeghi-Sefidmazgi, A. Pezeshki, and M. H. Ghaffari. 2018. Nutrient intake, rumen fermentation and growth performance of dairy calves fed extruded full-fat soybean as a replacement for soybean meal. Animal, 12(4): 733-740.